ՀԱՅԿԱԿԱՆ ՍՍՀ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԿԱԴԵՄԻԱ· ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԿԵՆՍԱԲԱՆԱԿԱՆ ՀԱՆԴԵՍ
АКАДЕМИЯ НАУК АРМЯНСКОЙ ССР. БИОЛОГИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ АРМЕНИИ
т. XXX, № 1, 1977

РЕФЕРАТ

УДК 577.15.591.8

Л. Р. ТУМАНЯН, М. А. ДАВТЯН

ОБ АТФ-АЗНОЙ АКТИВНОСТИ ДРОЖЖЕЙ CANDIDA GUILLIERMONDII ВКМ У-42

В литературе отсутствуют сведения об АТФ-азной активности дрожжей рода Candida. Имеющиеся работы по дрожжевой АТФ-азе касаются в основном родов Endomyces и Saccharomyces.

В наших исследованиях с интактными клетками дрожжей C. guilliermondii ВКМ У-42 оказалось, что они не проявляют активности. Но после замораживания и оттаивания суспензия клеток обнаруживала активность с оптимумом при pH 8,0. Вероятнее всего, при подобной обработке повышается клеточная проницаемость для АТФ, что говорит о внутриклеточной локализации фермента. Это подтвердилось появлением АТФ-азной активности при гомогенизировании дрожжей. Гомогенат голодавших в 2% растворе глюкозы дрожжей не проявлял активности.

С целью выяснения влияния способов голодания на АТФ-азную активность в специальных экспериментах использовалась суспензия целых клеток, подвергнутых замораживанию и оттаиванию, после голодания в 2%-ом растворе глюкозы или воде. Дрожжевые клетки полностью сохраняли АТФ-азную активность после голодания в воде, а после голодания в растворе глюкозы она исчезала.

Исследовалось влияние ДНФ, Ca^{++}, Mg^{++} и Mn^{++} на АТФ-азную активность неголодавших дрожжей. Mg^{++} и Mn^{++} в концентрации $7{,}2\times10^{3-}$ М стимулировали АТФ-азу как целых клеток, подвергнутых замораживанию и оттаиванию, так и гомогената. Что касается ДНФ и Ca^{++}, то ни в одном из вариантов эксперимента они не стимулировали активность фермента.

С целью выяснения внутриклеточной локализации АТФ-азной активности гомогенат подвергался дифференциальному центрифугированию с последующим определением активности фермента в полученных фракциях в присутствии Mn^{++}, 30-минутное центрифугирование при 18000 g осаждало лишь около 20% исходной активности гомогената, а дополнительное центрифугирование при 70000 g осаждало около 60% исходной активности. Дальнейшее центрифугирование при 125000 g и 200000 g приводило фактически к полному осаждению активности, оставляя лишь ее следы в супернатанте (5%). Подобный характер осаждения активности—отсутствие четких границ ее оптимального осажде-

ния—свидетельствует о том, что активность фермента связана с частицами различных размеров, образовавшихся в примененных нами условиях дезинтеграции клеток. По-видимому, обнаруженная нами АТФ-азная активность связана с частицами митохондриального происхождения. Это подтверждается характерным для митохондриальных мембран окрашиванием при обработке активных осадков янусом зеленым, полученных при высоких оборотах центрифугирования.

Изучалось влияние известных ингибиторов и активаторов АТФ-азы в отдельности и различных комбинациях на активность фракции, осаждаемой центрифугированием супернатанта при 18000 g—70000 g. Ca^{++}, как отдельно, так и при совместном добавлении с ДНФ не стимулирует АТФ-азу изучаемых нами дрожжей, что согласуется с имеющимися в литературе данными об отсутствии в дрожжевых митохондриях зависимого от энергии переноса Ca^{++}, ДНФ, как в присутствии Mg^{++}, так и Mn^{++}, также не стимулирует активность фермента. Это, однако, не противоречит нашему выводу о митохондриальной природе обнаруженной АТФ-азы, так как, согласно литературным данным, по мере разрушения митохондрий полученные субмитохондриальные частицы теряют постепенно способность к стимулированию АТФ-азной активности в присутствии ДНФ. Фторид оказался весьма эффективным ингибитором АТФ-азы. Он подавлял активность фермента в присутствии Mg^{++} на 53, а Mn^{++} —на 36%.

Суммируя полученные данные, можно заключить, что обнаруженная в изучаемых нами дрожжах АТФ-аза проявляет основные свойства, характерные для митохондриальных АТФ-аз других дрожжей.

Страниц 12. Таблиц 7. Библиографий 40.

Ереванский государственный университет, кафедра биохимии
и проблемная лаборатория сравнительной и
эволюционной биохимии

Поступило 6.X 1976 г.

Полный текст статьи депонирован в ВИНИТИ.